



TITLE:

ウレアーゼ阻害剤による尿路結石 の予防 第1報: 感染尿とウレアーゼ 阻害剤

AUTHOR(S):

竹内, 秀雄; 高橋, 陽一; 吉田, 修; 小橋, 恭一

CITATION:

竹内, 秀雄 ...[et al]. ウレアーゼ阻害剤による尿路結石の予防 第1報: 感染尿とウレアーゼ阻害剤. 泌尿器科紀要 1976, 22(2): 115-120

ISSUE DATE:

1976-02

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/121925>

RIGHT:

ウレアーゼ阻害剤による尿路結石の予防

第1報 感染尿とウレアーゼ阻害剤

京都大学医学部泌尿器科学教室（主任：吉田 修教授）

竹 内 秀 雄
高 橋 陽 一*
吉 田 修

富山大学薬学部薬品生物化学教室（主任：長谷純一教授）

小 橋 恭 一

PREVENTION OF INFECTED URINARY STONES
BY UREASE INHIBITOR

I. INFECTED URINE AND UREASE INHIBITOR

Hideo TAKEUCHI, Yōichi TAKAHASHI and Osamu YOSHIDA

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University**(Chairman : Prof. O. Yoshida, M. O.)*

Kyoichi KOBASHI

*Faculty of Pharmaceutical Science, University of Toyama**In vitro* effect of nicotinohydroxamic acid in lowering urine pH was investigated.

- 1) Nicotinohydroxamic acid markedly inhibited elevation of urine pH and crystallization of phosphate.
- 2) No anti-microbial effect was proved if concentration of hydroxamic acid is lower than 0.70 mg/ml.
- 3) Urine alkalization was noted only in *Proteus* group, but not in either of *Pseudomonas*, *Klebsiella* or *E. coli* group.
- 4) Precipitation of salt on the balloon catheters was inhibited by nicotinohydroxamic acid.
- 5) A great possibility was suggested from the study that hydroxamic acid might be a powerful medicine in preventing the phosphate calculi.

結 言

尿路結石の成因は不明な点が多いが、リン酸塩結石、とくにリン酸マグネシウムアンモン結石は尿 pH とアンモニア濃度の上昇が重要な要因と考えられている。これはウレアーゼ産生菌の感染により尿素が分解され、アンモニアが産生されるためである。

したがって、この種の結石の予防には感染抑制が重

要であるが、変形菌・緑膿菌・クレブシエラ等の尿素分解細菌の感染は化学療法にも抵抗することが多く、二次感染の場合、原因疾患の根治が困難なことがある。結石除去後も感染が持続して結石再発の主要因となっている。また、カテーテル留置をおこなっている患者においても、たびたび結石の合併、およびカテーテル周囲の塩類付着が認められ、泌尿器科臨床上重要な問題の一つとなっている。

感染に対する治療が完全にできなければ、リン酸塩

* 現大阪赤十字病院泌尿器科部長

結石の予防としては尿 pH 上昇をおさえることが重要となる。尿 pH 上昇抑制にはこれまで尿酸性化剤の投与などがおこなわれてきたが、その効果は著しくなく、種々の問題が残されている。

そこで、われわれはウレアーゼ阻害剤により尿 pH の上昇を抑制し、結石形成予防の可能性を検討した。特異的なウレアーゼ阻害剤であるヒドロキサム酸^{1,2)}のうちで、阻害作用の強力なニコチノヒドロキサム酸^{1,3)}を用いて、I) 実験的感染尿に対するニコチノヒドロキサム酸の尿 pH 上昇抑制効果：尿 pH 上昇抑制、アンモニア産生抑制、塩類析出、抗菌性など、II) 菌種、菌数と尿 pH 上昇抑制：実験的感染尿と臨床感染尿について、III) カテーテル結石とその抑制、の項目につき実験的研究をおこなったので報告する。

実験方法

ニコチノヒドロキサム酸 (mp168°) は Hacklby らの方法により富山大学薬学部薬品生物化学教室にて合成した。種々の細菌は京都大学医学部附属病院泌尿器科の尿路感染症の患者尿より分離されたものを用いた。細菌の定量は brainheart infusion agar を用いた混釈培養法にておこなった。

尿 pH は pH メーター (LABO-MATE II 東芝ベックマン製) および Toyo pH test paper にて測定した。アンモニアの定量は直接比色定量法 (インドフェノール発色法)⁵⁾ にておこなった。塩類の分析は光学顕微鏡による検鏡および赤外線分光分析にておこなった。カテーテルは天然ゴムラテックス製フォリーカテーテル (AMERICAN LATEX CORP 製) を用いた。

実験 I. 実験的感染尿に対するニコチノヒドロキサム酸の尿 pH 上昇抑制効果

健康人の中間尿を採取し、これに *Proteus mirabilis* 10⁵/ml 混入せしめて感染尿とし、種々の濃度のニコチノヒドロキサム酸を加えて 37°C に保温し、尿 pH・アンモニア量・塩類析出状況・菌数などについて、時間的に調べた。同一尿 5 検体についておこなった。

実験 II. 菌種、菌数とニコチノヒドロキサム酸の尿 pH 上昇抑制

A) 菌数と尿 pH 上昇

同様の方法にて、正常尿に *Proteus mirabilis* 10³/ml, 10⁵/ml, 10⁷/ml を混入しニコチノヒドロキサム酸 0.42 mg/ml を加えて尿 pH 上昇抑制の程度について調べた。

B) 菌種別の尿 pH 上昇と抑制

種々の菌種について同様の実験をおこない、細菌の

尿 pH 上昇作用とニコチノヒドロキサム酸の阻害効果および抗菌性について調べた。菌数は 10⁵/ml としニコチノヒドロキサム酸は 0.42 mg/ml 加えた。

C) 臨床感染尿とニコチノヒドロキサム酸の効果

当院尿路感染症の患者より採取した感染尿にニコチノヒドロキサム酸を 0.42 mg/ml 加えて 37°C 24時間保温し尿 pH の変化を調べた。すでに菌種の判明している患者尿 8 例について調べた。

実験 III. カテーテル結石とその抑制

カテーテル留置患者において、日常よく塩類の付着を認めるが、尿 pH 上昇を抑えることにより、これが防止されるかどうかを *in vitro* で調べた。

正常尿中に *Proteus mirabilis* 10⁷/ml を混入してニコチノヒドロキサム酸 0.42 mg/ml を加え 24時間 37°C 保温してカテーテル周囲の塩類付着状況を調べた。

実験結果

実験 I. 実験的感染尿に対するニコチノヒドロキサム酸の尿 pH 上昇抑制効果

尿 pH の変化は Fig. 1 に示すごとく、はじめ pH 6.0 の尿は 6 時間後まではほとんど変化せず、12 時間後では対照で 7.05±0.34 (mean±S.D.) と上昇するもニコチノヒドロキサム酸を加えたものではまだ上昇せず、24 時間後では、対照は 8.99±0.08 と上昇し、0.07 mg/ml のニコチノヒドロキサム酸を加えたものでは 7.90±0.16 と上昇するが、0.14 mg/ml では軽度上昇、0.42 mg/ml 以上では pH 上昇はごく軽度でニコチノヒドロキサム酸の効果がじゅうぶんに認められた。

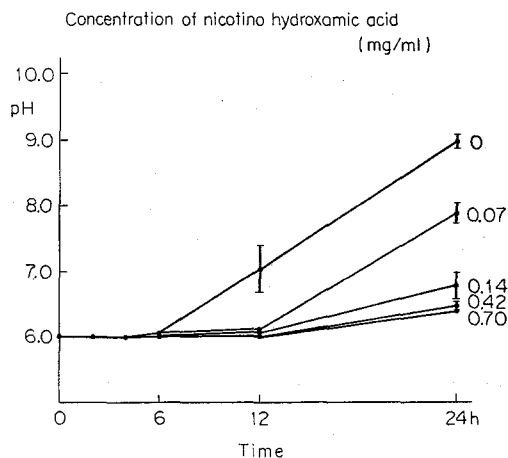


Fig. 1. Effect of nicotino hydroxamic acid on alkalinization of urine *in vitro*

尿中アンモニア濃度は Fig. 2 に示すごとく、はじめ

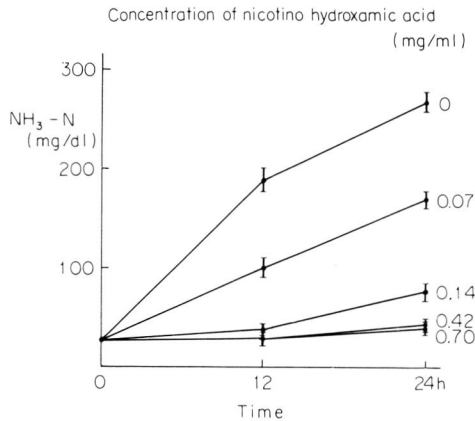


Fig. 2. Effect of nicotino hydroxamic acid on NH_3 production in urine

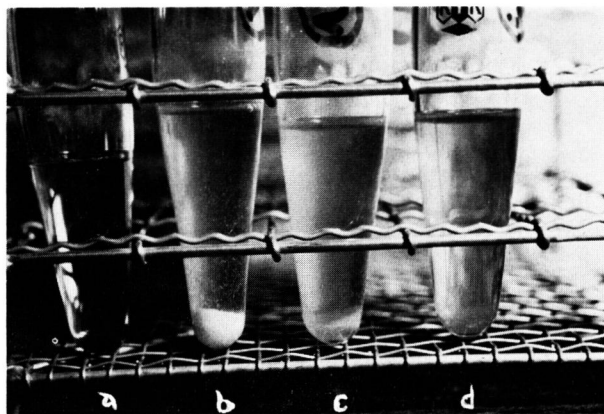


Fig. 3 Alteration of infected urine after 24 hr incubation

- a: sterile urine
- b: without nicotino hydroxamic acid (control)
- c: with 0.07 mg/ml nicotino hydroxamic acid
- d: with 0.42 mg/ml nicotino hydroxamic acid

実験Ⅱ. 菌種、菌数とニコチノヒドロキサム酸の尿 pH 上昇抑制

A) 菌数と尿 pH 上昇

Fig. 4 に示すごとく *Proteus mirabilis* $10^3/\text{ml}$, $10^5/\text{ml}$, $10^7/\text{ml}$ と菌数を変えてみると対照において $10^7/\text{ml}$ の場合は比較的短時間より尿 pH は上昇しはじめ、12時間後すでに 6.5 より 8.5 と上昇、 $10^5/\text{ml}$, $10^3/\text{ml}$ の場合は12時間後ではさほど上昇せず、24時間後には3者とも 9.0 前後と上昇した。しかし、ニコチノヒドロキサム酸 0.42 mg/ml 加えたものでは尿 pH 上昇は軽度で 7.0~7.4 であり、じゅうぶんにニコチノヒドロキサム酸の添加効果が認められた。

B) 菌種別の尿 pH 上昇と抑制

対照において尿 pH 上昇が認められたのは *Proteus mirabilis* 4/4株, *Proteus vulgaris* 2/2株, *Reitterella* 1/1

株, *Morganella* 1/1 と *Proteus* 群は全例に認められたが *Pseudomonas* 3株, *E. coli* 2株, *Klebsiella* 1株には pH 上昇作用が認められなかった。

対照で尿 pH 上昇が認められた菌株はニコチノヒドロキサム酸 0.42 mg/ml でじゅうぶん pH 上昇が阻止されたがいずれの場合も菌数は24時間後 $10^7/\text{ml}$ 以上であり、抗菌性は認められなかった。

しかし、菌数ははじめ $1.5 \times 10^5/\text{ml}$ であったものは24時間後にはすべて $10^7/\text{ml}$ 以上と増加し、ニコチノヒドロキサム酸の抗菌性は 0.70 mg/ml 以下では認められなかった。

株, *Morganella* 1/1 と *Proteus* 群は全例に認められたが *Pseudomonas* 3株, *E. coli* 2株, *Klebsiella* 1株には pH 上昇作用が認められなかった。

対照で尿 pH 上昇が認められた菌株はニコチノヒドロキサム酸 0.42 mg/ml でじゅうぶん pH 上昇が阻止されたがいずれの場合も菌数は24時間後 $10^7/\text{ml}$ 以上であり、抗菌性は認められなかった。

C) 臨床感染尿とニコチノヒドロキサム酸の効果

実際の尿路感染症の患者尿の場合 Table 1 に示すごとく、尿 pH 上昇が認められるのは *Proteus* 群の感染のあるもので、採尿時より尿 pH はアルカリに傾いており、比較的短時間で尿 pH 上昇が認められたが、ニコチノヒドロキサム酸を 0.42 mg/ml 加えたものではその上昇がじゅうぶん抑制された。*Pseudomonas*, *Citrobacter*, *E. coli*, *Klebsiella* の例は尿 pH 上昇が認

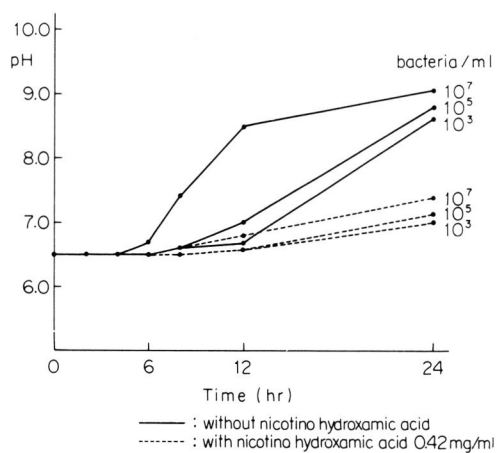


Fig. 4. Effect of nicotino hydroxamic acid on the pH of urine inoculated with *P. mirabilis* 10^3 , 10^5 , 10^7 bacteria per ml

Table 1. Effect of nicotino hydroxamic acid on alkalization of the infected urine

Case	Bacteria		Urine pH		
			0	6 hr	24 hr
S. N	<i>Proteus mirabilis</i>	10^7 /ml	7.8	8.4 (7.8)	9.0 (8.0)
K. A	<i>Proteus vulgaris</i>	10^6 /ml	7.6	8.0 (7.6)	8.8 (7.8)
T. K	<i>Morganella</i>	10^6 /ml	7.6	8.0 (7.6)	9.0 (7.6)
G. A	<i>Klebsiella</i> <i>Proteus vulgaris</i>	10^5 /ml 10^7 /ml	7.6	8.4 (7.6)	8.8 (7.8)
T. I	<i>Pseudomonas</i>	10^6 /ml	7.0	7.0 (7.0)	7.0 (7.0)
K. K	<i>Citrobacter</i>	10^7 /ml	5.6	5.6 (5.6)	5.8 (5.6)
H. Y	<i>E. coli</i>	10^7 /ml	7.0	6.8 (6.8)	6.8 (6.8)
M. K	<i>Klebsiella</i>	10^6 /ml	6.8	6.6 (6.8)	6.6 (6.6)

() : with nicotino hydroxamic acid



a)



b)



c)

Fig. 5 Crystal precipitation on the Foley's bag catheter
a), c) : control; b) : nicotino hydroxamic acid added

められなかった。

実験Ⅲ. カテーテル結石とその抑制

Fig. 5 は24時間後、試験管よりとりだしたカテーテルを顕微鏡にて調べたものである。対照では塩類の沈殿とともにカテーテル表面に多数の小結石の付着が認められるが、ニコチノヒドロキサム酸を加えたものでは全く付着しなかった。小結石は主としてリン酸マグネシウムアンモン結石であった。

考 察

ヒドロキサム酸は尿素と分子構造が類似しており (Fig. 6), 特異的なウレアーゼ阻害作用を有することにより多方面において種々の研究がなされている。例えば肝性昏睡においてそのおもな原因が血中アンモニア濃度の上昇に基因すると推定されているが、これは主として消化管内ウレアーゼによる尿素分解のため、このウレアーゼ活性をヒドロキサム酸によって阻害し、アンモニア産生を抑制することにより肝性昏睡の治療として使われはじめている^{1,6)}。また、尿素を飼料添加剤として用いた場合の家畜の高アンモニア血症の予防と治療について^{2, 3}のヒドロキサム酸が有効との報告があり使用されている⁷⁾。

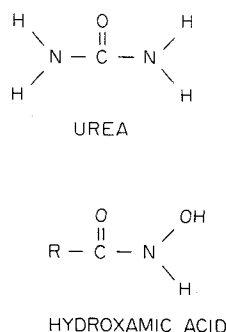


Fig. 6 Molecular structure of urea and hydroxamic acid

しかし、尿路結石症において、ウレアーゼ阻害剤による結石形成防止の研究はまだほとんどなされておらず、Griffith ら^{8,9)}のアセトヒドロキサム酸による結石形成防止の実験がなされているにすぎない。

リン酸塩結石は主として尿アルカリ性により形成されるが、とくにリン酸マグネシウムアンモン結石は尿素分解細菌の感染により形成されると考えられており、この種の結石の予防には感染抑制と同時に尿 pH 上昇を抑えることが重要である (Fig. 7)。

ヒドロキサム酸には種々の誘導体があるが、このうち芳香族系列で強力なウレアーゼ阻害作用のあるニコチノヒドロキサム酸³⁾を用いて、*in vitro* で尿 pH 上

昇抑制効果を調べ、じゅうぶんな効果をみた。実験Ⅰにおいて対照では尿 pH 上昇著明で多量のリン酸塩の析出を見たが、これはニコチノヒドロキサム酸により抑制された。しかし 0.70 mg/ml 以下の濃度では抗菌性は認めなかった。アセトヒドロキサム酸に抗菌性が報告されているが⁸⁾、きわめて弱く一般にヒドロキサム酸基には抗菌作用はほとんどないものと思われる¹⁾。実験Ⅱにおいて *Proteus* 群はすべて尿 pH 上昇がみられたが *Pseudomonas*, *E. coli*, *Klebsiella* では認められず、使用した菌株には尿素分解能がないものと考えられる。最近われわれの調べたところでは *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *E. coli* の一部の株に比較的弱い尿素分解能があることを認めた。また尿素分解細菌の感染症の患者では採尿時より pH 7.0 以上で、すでに塩類の析出があり、ある程度の尿流停滞が推察される。そして短時間で尿 pH 上昇がおこっているが、これは尿 pH がウレアーゼ活性の至適 pH 付近に達していることによるとと思われる。したがって尿素分解細菌の感染症の患者で尿流停滞の条件が加われば (尿流停滞のある患者に感染が起こりやすいのであるが)、尿 pH 上昇が急速に起こり、結石形成の危険が増大するものと思われる。実験Ⅲにおいてカテーテルの塩類付着防止にもニコチノヒドロキサム酸は有効であった。これはカテーテル留置患者において、尿中にヒドロキサム酸が存在すれば結石形成が予防できるものと思われ、局所的に利用できる可能性がある。

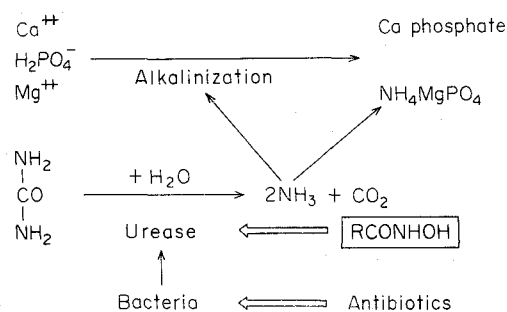


Fig. 7. Prevention of urinary stone formation

以上ニコチノヒドロキサム酸は尿 pH 上昇抑制効果がじゅうぶんあることが *in vitro* の実験で判明した。

現在、各種ヒドロキサム酸について体内代謝、阻害力などについて検討中であるが、体内投与にて尿中に活性の型で多量に排泄され、阻害力が強ければ非常に有用な薬剤となるであろう。

結 語

ニコチノヒドロキサム酸にて尿 pH 上昇抑制効果を

in vitro で調べた。

1) ニコチノヒドロキサム酸は尿 pH 上昇抑制効果著明で、リン酸塩の析出も抑えられた。

2) ニコチノヒドロキサム酸には 0.70 mg/ml 以下の濃度では抗菌性は認めなかった。

3) 尿アルカリ化作用は *Proteus* 群では全例に認めたが *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *E. coli* 等では認めなかった。

4) バルンカテーテルの塩類付着はニコチノヒドロキサム酸により抑えられた。

5) ヒドロキサム酸はリン酸塩結石の予防に有用な薬剤となる可能性がじゅうぶんあると思われる。

なお、本論文の要旨は1974年11月17日第24回泌尿器科中部連合地方会において発表した。

参 考 文 献

- 1) 小橋恭一：生化学，**44**：187，1972.
- 2) Fishbein, W.N., and Carbane, P.P. : Clin. Res., **12**: 453, 1969.
- 3) Kobashi, K., Kumaki, K. and Hase, J.: Biochim. Biophys. Acta, **227**: 429, 1971.
- 4) Hacklby Jr, B.B., Plapinger, R. Stolbery, M., and Jauregg, T.W.: J. Am. Chem. Soc., **77**: 3651, 1955.
- 5) 奥田拓道・藤井節郎：最新医学，**21**：622，1966.
- 6) 海藤 勇・佐藤俊一・佐原 元・有末太郎：診断と治療，**59**：10，1971.
- 7) 新林恒一：家畜栄養生理研究会報，**15**：23，1971.
- 8) Griffith, D. P., Musher, D.M. and Campbell, S. W. : Invest. Urol., **11**: 234, 1973.
- 9) Griffith, D.P. and Musher, D.M.: Invest. Urol., **11**: 228, 1973.

(1976年1月9日受付)

本論文訂正

Fig. 1, 2, 4 中 nicotino hydroxamic を
nicotinohydroxamic に訂正します。